

氏名	よこちとしひろ 横地俊弘
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	論農博第2097号
学位授与の日付	平成8年11月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Industrial Production of γ -Linolenic Acid by Filamentous Fungi (糸状菌による γ -リノレン酸含有油脂の発酵生産)
論文調査委員	(主査) 教授 清水 昌 教授 加藤 暢夫 教授 熊谷 英彦

論 文 内 容 の 要 旨

γ -リノレン酸は、動物にとって必須な高度不飽和脂肪酸のひとつであり、さまざまな生理活性を持つプロスタグランジン類の1群および2群が生合成される際の中間代謝物である。 γ -リノレン酸は、一般の動・植物油脂中に含まれず、その供給源は極めて限られていた。本研究において著者は、微生物を探索するなかで、*Mortierella*属糸状菌に有能な菌株が存在することを見いだすとともに、高密度菌体培養による効率良い γ -リノレン酸含有油脂の生産条件を確立した。また、油脂生産性を向上させるための連続培養法を検討し、従来、微生物で得られていた油脂生産性を大きく上回る、高い油脂生産速度および γ -リノレン酸生産速度を得ることに成功し、従来発酵生産の対象とされなかった微生物油脂について工業生産の先鞭をつける基盤を与えた。その主な内容は、以下のとおりである。

1) *Mortierella*属糸状菌のなかに最大で80%を越える高い油脂含量を示す有能な菌株が存在することを見いだした。また、これらの菌株における油脂含量は、トリアシルグリセロールを中心とする中性脂質の蓄積によるものであることを示した。また、*Mortierella*属糸状菌によって生産される油脂は γ -リノレン酸に富み、油脂として付加価値の高いものであることを認めた。

2) 油脂生産性の高い*Mortierella*属糸状菌は、通常の菌であると増殖が大きく抑制されるような高濃度のグルコース(10%以上)に対する強い耐性を示し、良好に増殖するとともに極めて高い菌体増殖量と油脂含量を示すことを見いだした。本研究で見いだされた*Mortierella*属糸状菌およびその培養条件においては、増殖可能な最大の初発グルコース濃度は40%であり、糸状菌の培養では従来に無い高密度の菌体生産と油脂蓄積が可能となった。また、脂質含量が高くなるような培養条件下では、細胞の形態が油脂の蓄積とともに酵母状になることを認め、このような形態の変化が高密度培養を可能にすることを示した。

3) 高密度培養が可能な*Mortierella*属の各種菌株より、増殖性に優れ、かつ γ -リノレン酸含量の高い菌株として *M. ramanniana* IFO 8187 を選択した。本菌株を用い回分培養および連続培養における諸条件を検討し、高濃度グルコース培地における高密度培養法を確立した。これにより、効率よい γ -リノレン酸含有油脂の生産法が確率された。

4) 低温溶媒分別法によって、 γ -リノレン酸を含む脂質成分の分離特性を明らかにし、アセトンを分別溶解として用いることが γ -リノレン酸含量を高める方法として有効なことを示した。

5) *n*-デカンを炭素源として *Mortierella* 属糸状菌を培養することにより、 γ -リノレン酸含量の高いリン脂質がグルコースを炭素源とした場合よりも高く蓄積されることを認めた。これに基づいて、 γ -リノレン酸を含むホスファチジルコリンあるいはホスファチジエタノールアミンの生産方法が確立された。

6) γ -リノレン酸の唯一の供給源であった月見草種子は γ -リノレン酸の濃縮・精製の障害となるリノレン酸を約70%と極めて高く含んでいるのに対して、*Mortierella* 属糸状菌により生産される油脂はリノレン酸の含量が10%前後とはるかに低いことを認め、*Mortierella* 属糸状菌により生産される油脂が γ -リノレン酸の供給源として優れた素材であることを示した。また、*Mortierella* 属糸状菌による γ -リノレン酸含有油脂の生産方法は、従来の植物による生産方法と比較して高い生産性を持ち、微生物によって、付加価値の高い油脂および関連物質を生産する方法が既存の生産手段に代わる可能性を持つことを示した。

論文審査の結果の要旨

γ -リノレン酸は、動物によって必須な高度不飽和脂肪酸のひとつであり、リノレン酸がさまざまな生理活性を持つプロスタグランジン類の1群および2群が生合成される際の間中代謝物である。 γ -リノレン酸の生理活性は、プロスタグランジン類の活性との関連で抗血栓形成作用やコレステロール低下作用、抗炎症作用などを示すとともに、強い抗菌活性なども報告されており医薬関連での利用が期待されている。しかし、 γ -リノレン酸は月見草、ボラージなど一部の特殊な植物油脂中に存在するのみであり、通常の植物油脂中には全く含まれていない。本論文は、 γ -リノレン酸含有油脂の効率的な微生物学的生産法の開発を目的として行った研究成果をまとめたものであり、評価すべき点は次のとおりである。

1) *Mortierella* 属糸状菌の中に、極めて高い油脂含量を持つ菌株を見いだすとともに、その油脂は、 γ -リノレン酸に富み、油脂として付加価値が高いものであることを示した。

2) *Mortierella* 属糸状菌の油脂蓄積に及ぼす培養条件を明らかにするとともに、油脂生産性の高い *Mortierella* 属糸状菌は、高濃度のグルコースに対する強い耐性を示すことを見いだした。この結果に基づき、高グルコース濃度培地における高密度菌体培養により、糸状菌の培養では、従来にない高密度の菌体生産と油脂蓄積を可能にした。

3) 高密度培養が可能な *Mortierella* 属の各種菌株より、 γ -リノレン酸油脂の生産に適した菌株の選別を行うとともに、高密度培養による効率の良い γ -リノレン酸含有油脂の生産を確立した。また、*Mortierella* 属糸状菌により生産される γ -リノレン酸含有油脂は、リノレン酸の含量が従来の供給源であった月見草種子から得られる油脂に比べて低いため、 γ -リノレン酸の濃縮・分離に適しており、 γ -リノレン酸の供給源として優れた素材であることを示した。

4) γ -リノレン酸含有油脂の生産性向上をはかるための連続培養の培養条件を明らかにした。また、連続培養における最も高い油脂生産速度は、菌体生産速度が最大の値をとる範囲で油脂含量が最も高くなる条件にて得られることを明らかにした。

5) γ -リノレン酸含有油脂の γ -リノレン酸含量を高める方法として、アセトン溶媒として用いた低温

溶媒分別法が有効なことを示した。さらに、 γ -リノレン酸含有リン脂質の生産においては、*n*-デカンを炭素源として用いることが有効なことを明らかにし、その生産条件を確立した。

6) 以上のように、本論文は、*Mortierella* 属糸状菌による γ -リノレン酸含有油脂の生産方法が、従来の植物による生産方法と比較して高い生産性を持ち、既存の生産手段に代わる可能性を持つことを実証するとともに、従来実現できなかった付加価値の高い油脂および関連物質の微生物学的生産法の開発に新しい方法論を与えたものであり、応用微生物学並びに発酵生理学に貢献するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成8年10月9日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。